



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	O PAPEL DE EGF/EGFR EM SARCOMA DE EWING
Autor	EDUARDA CHIESA GHISLENI
Orientador	GILBERTO SCHWARTSMANN

O PAPEL DE EGF/EGFR EM SARCOMA DE EWING

Autor: Eduarda Chiesa Ghisleni

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Schwartzmann

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A família de tumores Sarcoma de Ewing compreende um espectro de neoplasias com características neuroectodérmicas primitivas, na qual tumores menos diferenciados são denominados Sarcoma de Ewing (SE). Neste, o diagnóstico é mais frequente na faixa etária até 10 anos e o índice de cura está em 70%. No entanto, apenas 55% dos pacientes respondem ao tratamento e cerca de 50% recidivam. O fator de crescimento epidérmico (EGF) e seu receptor (EGFR) estão amplamente envolvidos no processo de tumorigênese e metástase de diversos tipos tumorais, por exemplo, em câncer de cabeça e pescoço, pulmão e colorretal. Em neuroblastomas, altos níveis de expressão de EGF/EGFR têm sido relacionados a um pior prognóstico.

Neste trabalho, avaliamos o papel de EGF/EGFR em Sarcoma de Ewing. As linhagens SK-ES-1 e RD-ES foram cultivadas em meio RPMI1640 suplementado com 10% SFB e 1% Gentamicina, em frascos de 25cm². Para experimentos de viabilidade, proliferação, clonogenicidade foram, plaqueadas 3x10⁴ células por poço em placas de 24 wells; 24 horas depois, essas células foram expostas ao EGF ou ao inibidor da fosforilação do respectivo receptor (“Tyrphostin - AG1478”) por 72 horas, com doses variando de 0,01–1µg/mL e 5–40 µM, respectivamente. A viabilidade e proliferação celular foram avaliadas a partir do método de exclusão por azul de Tripán. O ensaio clonogênico foi delineado a partir do plaqueamento de 10³ células, utilizadas no ensaio de viabilidade, em placas de 6 wells; análise deste experimento se baseia em fotos obtidas 13 dias após tratamento, nas quais avalia-se a média do tamanho das colônias número de células que as formam a partir do software ImageJ. Outro plaqueamento foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da inibição de EGFR no ciclo celular. As células de ambas linhagens estudadas foram plaqueadas em concentração de 3x10⁴ células por poço, em placas de 24 wells. Após 24hs foi feito tratamento com AG1478, doses variando de 5–40 µM. Quarenta e oito horas depois, foi realizada a marcação das células com 50µL/mL de iodeto de propídeo e análise por citometria de fluxo. A análise estatística será feita a partir de média±dp e teste ANOVA e *post-hoc* de Tuckey.

A exposição das linhagens ao EGF mostrou significância estatística quanto ao aumento na taxa de proliferação. Na inibição do receptor, a viabilidade e proliferação celular resultou em IC50 de 12,8µM e 9,8µM para SK-ES-1 e RD-ES. Foi observado, ainda, que a inibição da fosforilação de EGFR por AG1478 reduziu significativamente o número e tamanho de colônias das linhagens celulares de SE, e que a sua ativação reflete em um aumento de ambos parâmetros. Alterações das porcentagens populacionais em todas as fases do ciclo, excetuando-se a S, foram observadas.

Esses resultados sugerem que a exposição ao EGF aumenta a proliferação celular e capacidade de clonogenicidade de células de SE, bem como a diminuição destes quando da inibição do receptor. Também, a inibição de EGFR resulta em significativas alterações na progressão do ciclo celular de SE. Sugere-se, portanto, que a via EGF/EGFR tenha papel importante na proliferação celular e capacidade de clonogenicidade de células de SE.